

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DES ESTERASES
CHEZ LES MELOIDOGYNE (NEMATODA, TYLENCHIDA)**

Ahmed JANATI *

R E S U M E

Les estérases de quelques espèces de *Meloidogyne* ont été étudiées à l'aide de techniques électrophorétiques. Trente-deux populations d'origines géographiques variées et appartenant aux espèces *M. hapla.*, *M. incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria* ont été analysées. L'électrophorèse, soit en gel homogène à 7 % d'acrylamide, soit en gel à gradient de concentration, soit en gel à gradient de pH (isoelectrofocalisation), a permis d'identifier treize bandes d'estérases qui sont regroupées sous trois dénominations, selon leur migration et leur capacité d'hydrolyser les substrats : trois phénotypes d'estérases (Ef ; 0,01 ; 0,00) hydrolysant le 5-bromochloroindoxyl acétate, huit phénotypes d'estérase β (Ef : 0,19 ; 0,24 ; 0,25 ; 0,27 ; 0,28 ; 0,30 ; 0,33 ; 0,40) n'hydrolysant pas le *B*-naphtyl acétate, mais hydrolysant l'*a*-naphtyl acétate et six phénotypes d'estérase *b* (0,27 ; 0,28 ; 0,30 ; 0,33 ; 0,36 ; 0,38) hydrolysant ces deux substrats, ont été ainsi déterminés.

Les estérases *b* se sont révélées effectivement utiles pour la distinction entre *M. hapla.*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* et *Meloidogyne sp.* (Séville). Les estérases β sont très variables selon les populations, essentiellement chez *M. arenaria* pour lequel on a relevé six phénotypes d'après les profils observés. Aucune variabilité intraspécifique n'a par contre, été notée chez *M. incognita*, *M. javanica* et *Meloidogyne sp.* (Séville).

Par ailleurs, d'une façon générale, il se confirme qu'il n'y a guère de polymorphisme au sein des populations de ces trois *Meloidogyne*, ce qui s'explique bien du fait de leur mode de reproduction qui est une parthénogenèse obligatoire.

Des écarts de divergence entre les espèces et les populations ont été calculés en comparant les profils des groupes d'estérases *b* et β .

L'étude de l'activité des estérases *b* selon la température et leur comportement en électrophorèse a conduit à envisager que les estérases *b* 0,30, 0,33, 0,36, et 0,38 sont des allozymes du locus *b*. Ceci concorde avec le fait que *M. incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria* sont considérés comme étant polyploïdes.

L'étude de la thermostabilité des estérases *b* montre une certaine thermosensibilité pour *b*-0,36 par rapport à *b*-0,30, *b*-0,33 et *b*-0,38 Ceci peut aussi être attribué soit à des différences quantitatives (en relation avec la polyploïdie) ou à un changement de la structure de l'enzyme.

Les essais de localisation des estérases *in situ* chez le nématode, à tous ses stades, révèlent la présence d'une acétylcholinestérase et d'une estérase non spécifique au niveau des amphides, des phasmides et des spicules. Les sécrétions amphidiales des larves L2 contiennent en abondance l'estérase non spécifique.

CONCLUSION

L'identification rigoureuse des *Meloidogyne* constitue le point clé de toute recherche biologique et écologique sur ce groupe de nématodes, et conditionne l'utilisation des sources de résistance végétale à ces ravageurs.

Les caractères morphologiques ne sont pas assez discriminants pour prévoir la diversité de comportement de populations supposées appartenir à différentes espèces ou à une même espèce.

On sait que, grâce aux techniques d'électrophorèse qui permettent l'étude d'un grand nombre de protéines et d'enzyme constituant le produit quasi direct de l'activité des gènes, la taxinomie difficile de certains groupes d'organismes (champignons, bactéries, protozoaires, arthropodes...), a fait de grands progrès.

La valeur taxinomique des techniques d'électrophorèse a été étudiée sur les *Meloidogyne* par quelques auteurs. Les résultats obtenus par DALMASSO et BERGE (1978) encourageaient à étudier de manière approfondie le système allélique des estérases qui se sont révélées effectivement contenir d'utiles informations pour la séparation délicate et parfois même contestée de quatre espèces étudiées : *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* et *Meloidogyne sp.* (Séville). Les observations rapportées ici montrent qu'il s'agit d'une technique qui doit être manipulée avec beaucoup de prudence, et que le degré de polymorphisme peut être perçu différemment suivant les conditions d'électrophorèse. Pour cela on doit s'assurer un premier temps des conditions optimales à une interprétation correcte du couple gène-enzyme.

(Séville) et *M. incognita*, en dépit de leur similitude morphologique. Ce même écart existe par rapport à *M. javanica* et *M. arenaria* qui ont moins de ressemblances anatomiques avec cette espèce. *M. incognita* et *M. javanica* présentent chacune approximativement un écart comparable vis-à-vis de *M. hapla*, mais sans montrer de similitude entre elles.

Toutefois, existe une variation intraspécifique importante chez *M. arenaria*, six phénotypes ont été identifiés : A I et II, qui se rapprochent de *M. javanica* et A III, A IV, A V et VI, qui se rapprochent plutôt de *M. incognita* pour ces deux groupes d'estérases. A l'opposé, aucune variabilité dans ces profils n'est ressortie de l'observation de plusieurs populations, tant de *M. javanica* que de *M. incognita*, de même aucun polymorphisme n'est apparu au sein de chaque population de *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* et *Meloidogyne sp.* (Séville), prises individuellement (chaque population étant constituée en fait de quelques lignées de masses d'œufs uniques). Cette dernière caractéristique est sans doute liée au mode de reproduction qui est une parthénogenèse obligatoire de type améiotique. Ici l'unité de l'hérédité est le génome en son entier, aux mutations près.

Il n'a pas été trouvé de relations évidentes entre la composition du profil d'isoestérases et le degré de polyploïdie. Ainsi, deux populations de *M. hapla* ont le même profil d'estérases (β -0,19 et b -0,33), bien qu'elles diffèrent par le mode de reproduction et le nombre de chromosomes, Ce sont la population Saint Emilion qui a 17 chromosomes et se reproduit par amphimixie ou par parthénogenèse méiotique, et la population Saulcy qui a 45 chromosomes et se reproduit par parthénogenèse améiotique. L'hypothèse d'une homozygotie permanente chez cette dernière population n'est pas à écarter (cf. DALMASSO & BERGE, 1978), mais je n'ai pas relevé de différences dans l'activité des bandes d'estérases pour ces deux populations comme devrait le laisser paraître une duplication des loci résultant d'une polyploïdie. Toutefois, à l'appui d'une hypothèse de polyploïdie, on observe que le nombre d'isoestérases de *M. incognita*, *M. javanica* et de *M. arenaria* est supérieur à celui de *M. hapla* (espèce considérée comme diploïde à quelques rares exceptions près) et va plus ou moins de pair avec le nombre d'unités chromosomiques connu pour ces espèces. Tous les individus de *Meloidogyne sp.* (Séville), qui est considérée ainsi comme diploïde ($2n = 36$ chromosomes), bien que parthénogénétique et mitotique, ont deux isoestérases β (0,25 et 0,30) et deux isoestérases b (0,27 et 0,28) ; ce qui pourrait alors traduire une hétérozygotie permanente.

Les comparaisons basées sur l'étude de l'activité des isoestérases selon le temps et la température ont montré que les deux isoestérases $b_{0,30}$ de *M. incognita* et *M. javanica* ont le même.

Le système d'électrophorèse choisi pour l'étude des estérases de *Meloidogyne* a permis d'établir une première approximation de similitude ou de divergence entre les espèces et populations étudiées, en se basant sur deux groupes de variants alléliques : les isoestérases β et les isoestérases b . Les données révèlent une grande diversité des isoestérases β que ce soit entre les espèces ou entre les populations, notamment dans ce dernier cas chez *M. arenaria*. Les isoestérases b sont beaucoup moins variables au sein de l'espèce et donc bien plus discriminantes pour les séparer. En comparant les profils d'isoestérases β et b des espèces et des populations, un certain écart a été noté entre *Meloidogyne sp.* comportement vis-à-vis des températures choisies, mais l'activité de l'estérase de *M. incognita* est supérieure à celle de *M. javanica*. L'hypothèse d'une présence de plusieurs isoestérases) chez *M. incognita* est possible d'autant que cela s'accorde avec les données caryologiques (TRANTAPHYLLOU, 1971), qui font état d'une polypléidie chez cette espèce, encore qu'aucune des bandes « sur-intenses » n'ait pu être dédoublée par l'isofocalisation. Tout ceci conduit en définitive à considérer que les isoestérases $b-0,30$, $b-0,36$ et $b-0,38$ de *M. javanica* sont des allozymes du locus b , comme supposé par DALMASSO et BERGE (1978) qui ont envisagé l'existence d'un seul locus pour ces estérases (locus b). Ainsi, il semble que *N. incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria* soient polypléides comme l'avait pensé TRIANTAPHYLLOU (1971), en se fondant sur le nombre de chromosomes. Cependant l'évaluation du degré de cette polypléidie des *Meloidogyne*, assortie d'aneuploïdie, reste incertaine. L'étude du polymorphisme génétique apporte plutôt des arguments à cette hypothèse, mais cela ne saurait suffire ; d'où la nécessité des travaux cytologiques. L'étude d'autres loci devrait aussi permettre de mieux apprécier les distances génétiques entre les espèces et la variabilité interspécifique et d'éclairer, tout en précisant les mécanismes, le processus original d'évolution que ces nématodes tirent de leurs modalités de reproduction.

Après cette étude électrophorétique des estérases des *Meloidogyne*, j'ai essayé de localiser celles-ci *situ* chez le nématode. Ainsi, une acétylcholinestérase a été révélée au niveau des tissus nerveux (nerfs amphidiaux, phasmides, nerfs des spicules). Cette activité acétylcholinestérasique n'a pu être mise en évidence sur gel après électrophorèse des broyats des femelles. Cet échec peut être attribué, soit à l'inadaptation des techniques d'analyses, soit à la quantité de protéines insuffisante pour permettre la révélation de l'enzyme.

Dans ces mêmes tissus nerveux et dans les sécrétions amphidiales, une estérase non spécifique a été localisée en abondance. Or ENDO et WERGIN (1973) ont signalé, dans une étude de

relations hôte-parasite, la présence de sécrétions chez la larve L2 de *M. incognita* précisément autour des amphides, mais sans déterminer la nature de celles-ci. Ces observations paraissant indiquer que des estérases peuvent avoir un rôle dans les relations hôte-nématode. Des tentatives d'analyses électrophorétiques de ces sécrétions ont échoué, alors que nous les avons réussies avec d'autres nématodes phytophages (*Ditylenchus destructor* et *D. dipsaci*), mais il s'agit là de nématodes beaucoup plus grands et beaucoup moins fragiles que les larves de *Meloidogyne*. L'amélioration et la miniaturisation des techniques d'analyses pourraient résoudre ce problème et permettre d'étudier la physiologie, encore peu connue, de ces nématodes.